

Tömegspectrometriával diagnosztizálható kórképek klinikuma és genetikája

Dr. László Aranka

SZTE ÁOK Gyermekgyógyászati Klinika és Gyermekegészségügyi
Központ, Szeged

*MS tömegspectrometriával beszárított szűrőpapíros vércorongból a
következő genetikai kórképek diagnosztizálhatók:*

- Aminoacidopathiák/-uriák
- Organikus aciduriák
- A rövid-, közép-, és hosszúláncú zsírsavak mitochondrialis beta-oxidációs zavarai

Aminoacidopathiák/-uriák

Tyrosinaemia

Meglehetősen ritka aminoaciduria.

Enzimdefektus: fumaryl-aceto-acetát-hydroláz (FAH)

Öröklődés: autosomalis recesszív

Génlókus: 15q23-24 (OMIM) #276700)

Dg.: A serum tyrosin változó fokban emelkedett, több 100 umol/l lehet (norm.: 30-120).

Vizeletben: jellegzetes metabolit a succinil aceton, mely jelentősen emelkedett. A vizelet un. retardációs tesztek közül a tyrosin próba lilásvörösen pozitívan elszíneződött.

Mol. genet. dg.: A FAH gén mutációk számos variánsát közölték.

Tápszer, diéta: phenylalanin és tyrosinmentes étrend,

Kóros metabolit antidotum az NTBC 1 ug/kg/die (*E. Holme, Lindstadt*)

Klinikai tünetek: csontfájdalom, osteopathia, mentális retardatio általában nincs vagy minimális, májtünetek állnak előtérben, májadenomák kialakulása törvényszerű. Az NTBC forgalmazásáig valamennyi beteget

világviszonylatban májelégtelenségben ill. májcarcinomában vesztek el.

Saját tyrosinaemiás betegek.

Két tyrosinaemiás családból 2 ill. 3 fiúgyermek exitált pubertásig, annak ellenére, hogy mindkét családból a 2. ill. 3. beteg újszülött korától MILUPA Tyr 1, majd Tyr 2 tápszert kapott, a toxikus *szuccinylaceton képződés* miatt *májcalcinomában*.

Májadenoma ill. primer hepatocelluláris calcinoma számos amynoaciduriában, és egyéb anyagcserebetegségben kialakulhat.

Alkaptonuria

Első leírója *Archibald Garrod (No. 203500)*, autoszomalis recesszív öröklődésű.

Enzymdefektus: a HGO génben és következményes hiány a homogentisat-1, -2 dioxigenase aktivitásban, amely homogentizinsav felszaporodást eredményez (HGA), a porcok és szervek fekete elszíneződését, valamint kötőszöveti destrukciót. Hatékony kezelési mód nem ismert, bár a nitishinon gátolja azon enzyemet, amely HGA-t produkál. Enzymhiány igazolható, valamint a *HGO mutációk* molekuláris genetikai módszerrel bizonyíthatók. A plasma tyrosin szint a betegekben emelkedett (700 umol/l-re).

Tünetek: Diagnosztikus a sötét vizelet, krónikus ízületi fájdalom, kisizületek érintettsége. Mentális érintettség nem észlelhető. Kötőszöveti érintettség súlyos lehet. Inakat involválhatja a folyamat, Achilles ín rövidülés jellegzetes, emellett ízületi effusiók, főként térdben, suprapatellaris burza lehet érintett, synovitis.

A betegség fontos *tünete* a vesekövesség, prosztatavövesség.

Kardiológiai tünetek között aorta dilatáció vagy szívbillentyű érintettség, calcificatio.

Néhány beteg aorta billentyűpótlásra szorult. Coronária meszesedést CT bizonyít. Csupán 1 betegben csökkent a creatinin clearance, alacsony részesedésű a hepatitis, emelkedett transferazokkal.

Mol. genet. dg.: HGO mutációk, 116 betegből 90%-ban találtak mutációkat, 3-nonsense, 24 missence, 3 frameshift mutációt, és 5 különböző intronalis mutációt az 1-13 exonokban. Jelentős volt az M368V mutációk száma, 7 betegnél H80Q mutációs homo vagy heterozygotaság szerepelt, mely a leggyakoribbnak bizonyult. (*Beltran Valero de Bernabe D. és mtsai. Am J Hum Genet 1998.*)

Homocystinuria

Enzimdefektus: methylén tetrahydrofolate reduktáz (MTHFR) gén-mutációk

OMIM (+236200)

Jellegzetes marfanoid phenotypussal járó aminoaciduria, enyhe hyperhomocystinaemiában methylációs defektus dominál, ischaemiás epizódok észlelhetők, veseérintettségel.

Génlókus: 21q22.3 így C677T (cytosin-timin), G919A (guanin-adenin), S307G (szerin-glycin), R125Q (arginin-glutaminsav csere).

Öröklődés: autosomalis recesszív

Klinikai tünetek: marfanoid alkat (magasnövésű, astheniás típus, szemlencse subluxatio, pókujjak=arachnodactylia) Tágult kanyargós lefutású sclerális erek, mentális retardatio, esetenként epilepsia, arteriás és vénás fokozott thrombosis hajlam.

Dg.: plasma és vizelet quantitativ aminosav analyseres vizsg.: hyperhomocystin szint

A beteganyag kb. 50%-a piridoxin függő.

Molekuláris genetikai mutatiós analysis homocystinuriában

PCR/RFLP módszerrel analizáltuk a cystationin-beta-synthase gén (CWS) mutatioit, *Sebastio et al.* (1995) módszerével.

16 éves betegünkben a következő eredményt kaptuk: PI45L -/-, R125Q: -/-, I278T: +/-, G307S: -/-

A 145, 125 és 307 kodon mutatiók negatívnak bizonyultak saját esetünkben, míg a 278-s kodon mutatio heterozygota genotypusban volt igazolható.

Piridoxin-non-responsive homocystinuriában *Vilaseca és mtsai.* (2004) 677 C-T homozygotaságot igazoltak.

Saját homocystinuriás gondozott betegek:

V. N. László: 27 éves férfibetegnél az (Országos Ideg- és Elme Intézet Budapest). Jobb oldali fronto-temporalis embolizatio/emolitio miatt kialakult bal oldali hemiparesis kapcsán észleltek epilepszia romlást, és anyagcserebetegség gyanúja merült fel. Klinikánk anyagcsere részlegén tisztázódott a homocystinuria diagnózisa, megtörtént a diétás- és gyógyszeres beállítása.

B. A. homocystinuriás 16 éves serdülő tipikus homocystinuriás fenotípust mutat, enyhe mentális elmaradással (gigant termet, arachnodactylia, szemlencse subluxatio, műtét után).

A serum és vizelet *quantitativ aminosav analyzeres analyse* vezetett a diagnózishoz.

Molekuláris genetikai vizsgálattal specifikus mutáció igazolódott.

Non-ketotikus hyperglycinaemia (NKH)

OMIM (#605899)

Synonima: glycin encephalopathia

Génlocus: a P-protein gén a chromosoma 9p24-re lokalizálódik, 15–30%-ban T-protein defektus (chromosoma 3q21.1 -21.2 és kis százalékban a H-proteint). 16q24, 9p22.

Öröklődés: Autosomalis recesszív, a glycin degradatio zavara, excessív mennyiségű glycin szaporodik fel a szövetekben, főként a központi idegrendszerben.

Enzymdefektus: az intramitochondriális glycin hasítórendszer (GCS) defektusa, érinti a P-proteint (glycine decarboxylase), T-proteint (amino-methyl-transferase), H-proteint (GCS hidrogén -carrier protein) és L-proteint (lipoamid dehydrogenase).

Az NKH beteg gyermekek 65–80%-ban P-protein defektus áll fenn.

A glycin neurotransmitter, a cortex-ben excitatórikus hatású N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor csatorna komplexben és gátló hatású a gerincvelőben és agytörzsben.

Biokémiai dg.: az NK gyermekekben excessíve fokozott a serum/glycin arány és a liquor/serum glycin ráta 0,05 feletti.

Mol. genet. dg.: mutációs analysis kapcsán gyakorinak bizonyultak a P-(S564I, G761R, R515S) és T- protein (R320H, IVS(intronalis mutatio) 7-1G>A).

Klinikai lefolyás és a neurológiai kimenetel eltérő a *klasszikus neonatalis formánál* és az *atipikus formáknál*. Súlyos a neonatalis forma, már az első életnapokban klinikai jellemzője a hypotonia, coma, apnoe és görcsök, korai halálhoz vagy súlyos mentális leépüléshez vezetnek, kezelhetetlen görcsökhöz és spaszticitáshoz.

Az *atipikus NKH forma* változó fokú mentális retardatiohoz vezet, (IQ 25–60), valamint görcsökhöz, hyperaktivitáshoz és cerebelláris tünetekhez.

Átmeneti NKH forma jó neurológiai prognosissal. Mindhárom formánál károsodik a GCS aktivitás, a GLDC génben A820V homozygotaságot találtak.

A kimenetel korai megítélése kérdéses, súlyos prognosissal a neonatalis forma, enyhébb a később manifesztálódó NKH. Magas liquor glycin

koncentráció, valamint magasabb liquor plasma/glycin ráta súlyos prognosira utal.

Congenitalis fejlődési rendellenességek, így corpus callosum aplasia, vagy hypoplasia, hydrocephalus, retrocerebelláris cystával vagy dongalábbal, súlyos prognosisú.

Therápia: Effektív kezelési mód nem ismert. A glycin koncentráció csökkentésére a glycin neurotransmitter receptorok blokkolása jön szóba, benzoát vagy dextrometorfán kezelés.

A benzoát dosisa magas legyen 200–750 mg/kg/nap, mely képes csökkenteni a görcsöket, javítja az idegrendszeri statust, de nem védi ki a mentális retardatiót.

Dextrometorphán dosisa 5–35 mg/kg/nap, mely az NMDA receptor kompetitív antagonistája, csökkenti a görcsöket, de gyenge hatású súlyos NKH-ban (*J.B. Hennermann 2004., Hamos et al. 1998.*)

K.Carpenter, P.Procopis, K.Green, B.Wilcken: Atypical Non-Ketotic Hyperglycinaemia with Sudden Late Onset of Spasticity. Biochem. Genet. Serv., Dept. Neurol., Children's Hospital at Westmead, Sydney Australia. (Poszter SSIEM 2005. Paris).

NKH, a glycin hasító enzimkomplex zavara.

Laboratóriumi dg.: liquor és plazma glycin koncentrációmérése, emelkedettek, liquor/plazma glycinráta is emelkedett.

Kvantitatív enzimmeghatározás májbiopsziából.

Enyhébb formában tünetek: enyhe mentális retardatio, spinocerebelláris degeneratio, és progresszív neurodegeneráció.

Atipusos NKH-ban a tünetek gyors kifejlődése mellett a liquor plazma ráta normális volt.

Esetismertetés: libanoni szülők első gyermeke, két és fél éves koráig normális fejlődést mutatott, utána rapid leépülés kezdődött, AV spaszticitás, három éves korára lendkerekes segédeszközre szorult. A vizeletben emelkedett glycin, normális organikus savakkal, liquor aminosavak és kifejezett plazmaeltérés. Májbiopsziából a glycin hasító P protein rendszer zavara igazolódott. (MRI-n diffúz fehérállomány lesio, a frontoparietális mély fehérállományban. Agytörzs vagy gerincvelő nem érintett.)

Molekuláris genetikai diagnosztika: Az esetek az MCAD a fő mutatio c985 A >G genotípus, /c199 T>C.

Urea ciklus zavarai

Ureaciklus betegségek (UCD) kimenetele

Aminoacidopathiák: Az UCD betegségek Mass-Tandemmel diagnosztizálhatók.

Kezelés: döntő a korai kezelés, proteinkorlátozás, arginin és esszenciális aminosavak pótlása, benzoát, phenylacetát és phenylbutyrát is szóba jönnek.

A svájci kérdőíves felmérés alapján (C. Bachmann 2004.) az első élethétén a betegek 69%-a, az első három napon 59%-a exitált.

A plasma ammónia 300 $\mu\text{mol/l}$ feletti kezdeti szintje mellett gyakori a maradandó szellemi károsodás, 480 $\mu\text{mol/l}$ értékkel vagy felette egyetlen egy betegnél nem fordult elő normális kognitív státusz.

UCD defektusok irodalmában neuronális fejlődéskésés dominál, mely összefügg a coma vagy ammónia peak tartalmával. Myelinisatio zavar áll fenn, hyperammonaemiás krízisekben.

A kreatin védő hatású, az agy barriereken keresztül penetrál, de a központi idegrendszerben argininből újonnan is szintetizálódik. Arginin és kreatin pótlás nem vethető el, protektív hatású. Korai máj-transzplantatio lehet az alternatív megoldás, számos UCD kórképben.

Elágazó láncú organikus aciduriák, a leucin, izoleucin és a valin metabolitjaival függenek össze.

Carbamoyl foszfát syntase I. hiány (CPS)

Enzymdefektus: CPS.

Öröklődés: autosomalis recesszív

Klinikai formái: neonatalis és késői manifesztációjú forma

Klinikai tünetek: hyperammonaemiás encephalopathia, hányás

Dg.: quantitatív aminosav analyseres vizsgálat

Mol. genet. dg.: A CPS I. gén 38 exonból áll, polymerase láncreakcióval magányos szálú konformációs polymorphismus analysis (PCR-SSCP) diagnosztikus. A PCR produktumok szekvenciaanalízisére szükség lehet. Gyakoribb mutációk: 2549G/A (850. kodonban aminosavcsere), R850H, 2797 deletioT (L933X = a leucin cserélődik, stopkodon képződéssel)

Summar ML és mtsai. 2003.

Ornithin transcarbamylase defektus (OTC)

Enzimdefektus: ornithin transcarbamylase.

Génlokusz: Xp21.1 (OMIM#300461)

Öröklődés: X- chromosomához kötött recesszív, az adott családon belül a fiúgyermek 50% valószínűséggel érintettek, hemizygoták, a leánygyermek 50% valószínűséggel heterozygoták.

Dg.: Mass- Tandem spectrometriával (MS/MS) ureaciklus metabolitok vizsgálata, ornithin, methionin, citrullin, arginin.

Vizeletből orotidin és orotsav analysisére biztonságos, gyors módszer, non-invasiv szűrésre HPLC (high-pressure liquid chromatography), a feltételezett génhordozó kimutatására is alkalmas proteinterheléssel egybekötve. A génhordozó nőknél szülés után különböző súlyosságú hyperammonaemiás comatosus állapot léphet fel (*Cordero et al. 2005*).

Molekuláris genetikai dg.: Mutációs analysis: R40H a leggyakoribb mutáció

Deletios mutáció második leggyakoribb R26Q, R129L

Intronális mutációk: IVS7-3a>G1

További mutációk: T178M, H702R, A208T késői manifestációval (*Genet S. et al. 2000*).

Gyrat atrophia

Enzimdefektus: Ornithin-delta aminotransferase (OAT)

Dg.: hyperornithinaemia detektálása serumból kvantitatív aminosav analyseres vizsgálattal vagy MTS/MTS. Szemészeti konzílium: réslámpa, fundoscopia, plasma és vizelet ornithin-meghatározás, elektro-oculogram.

Öröklődés: autosomalis recesszív

Tünettan: látásélesség-zavar, retina degeneratio.

Mol. genet. dg.: Az OAT gén 4. exonjában guanin-adenin báziscsere a 271. pozícióban, mely a 91-es kodonban GGG-AGG glycinpótlást eredményez a pozitív karakterű argininnal (G91R) a természetes proteinkódoló szekvenciában.

Diéta: Szemisztetikus alacsony arginindiéta, alacsony proteinbevitel 0,8 g/kg/nap. (*Mitchell et al. 1988*)

Arginin-succinat-lyase defektus (ASLD)

Relatív ritka ureaciklus defektus, arginin-borostyánkősav betegség

Enzimdefektus: ASLD gén mutációs zavara, mely congenitális hyperammonaemiához vezet.

Mol. genet. dg.: A perifériás lymphocytákból vagy fibroblast- kultúra sejtekből vizsgálható az ASL-mRNS (messenger RNS) régióból RT-PCR (reverz transzkriptáz és polimeráz) láncreakciós módszerrel.

Mutációk: E86A és R113W komplex heterozygotaságot igazoltak neonatalis manifesztáció esetén, német-lengyel leszármazott betegekben. 5 finn betegben R385C homozygotaságot bizonyítottak (Linnebank és mtsai. 2000. Fulda)

Organikus aciduriák

Carnitin-acylcarnitin transzlokáz hiány (CACT)

Enzimdefektus: carnitin-acylcarnitin transzlokáz

Öröklődés: autosomalis recesszív, igen ritka

Klinikai tünetek: 1. Neonatalis phenotypus: hypoketotikus hypoglycaemia, hyperammoniaemia, cardiomyopathia, vázizomgyengeség, korai fatális kimenetel.

Mol. genet. dg.: hosszú láncú zsírsavak (LCFA) carnitin észtereinek transzport defektusa, a CACT gén missence mutációja fibroblast kultúrából vagy perifériás lymphocytaiból történhet, PCR, sense és antisense primerekkel. A gén 7. exonjában, a 793-as kodonban adenint guanin pótolja, következményes aminosavátrendeződéssel, azaz (Q238R) a glutamint arginin pótolja.

Tápszer: izoleucin, methionin, threonin és valin mentes készítmény ILVM. Alacsony proteintartalmú diéta szükséges. 1,2–1,5 g/kg/nap.

Propionacidaemia PA, methylmalon-aciduria (MMA) és izovalerián-aciduria (IVA).

Dg.: vizelet organikus sav analysis gázkromatográfiával/MS-sel.

Th.: fehérjekorlátozás, alacsony proteindiéta és propiontképző baktériumok gátlása, toxikus metabolitok eltávolítása, dialysis, L-carnitin, Betain, enzimpótlás, szervtranszplantatio (JH Walter 2004.)

Fumar aciduria

OMIM (#2311680)

Génlókusz: 19q13.3

Ritka **autosomalis recesszív örökletességű** anyagcsere zavar, a Krebs tricarboxylsav ciklus enzimzavarára vezethető vissza.

Enzimdefektus: fumarat-hydratase

Pathogenesis: még részleges tisztázásra vár, károsodott energia-termeléssel jár, NADH és FADH csökkenéssel, azaz elektron-transzportzavarral. Másodlagosan gátolt a succinát dehydrogenase, glutamat dehydrogenase és adenyl-succinat lyase aktivitás, fumarát felszaporodás miatt.

Tünetek: korai infantilis encephalopathia változó fokú tudatzavarral, mentális fejlődészavar, generalizált izomhypotonia, polymicrogyria, fehérállománysorvadás, tág agykamrarendszer, szélesen nyitott kutacs. A polymicrogyria és cerebialis sorvadás MRI-vel egyértelműen diagnosztizálható. Generalizált epilepsiás görcsök, súlyos pszichomotoros leépülés törvényszerű.

A fumarase aktivitás a kontroll 30–50%-a a tenyésztett fibroblastok mitochondrialis és cytosol állományában az obligatórikus heterozygota génhordozó szülőkben.

Esetünkben (EK leánycsecsemő) generalizált hypotoniát, encephalopathiát észleltünk. 3 hónapos korától BNS típusú görcs jelentkezett halmozottan myoclonussal. Mindvégig járásképtelen volt, autisztikus jegyek alakultak ki. Számos antiepileptikum mellett befolyásolhatatlan görcsállapot jellemezte. Phenotipikusan macrocephalia dominált. Az izombiopsia infantilis típusú izomrostokat jelzett, karnitinhiányos lipid-myopathia és mitochondrialis myopathia kizárható volt.

Molekuláris genetikai vizsgálattal a generalizált izomhypotonia mögött Werdnig Hoffman kór kizárható volt DNS mutációs analysissel. Az SMA gén (spinalis muscularis atrophia génje) 7 és 8 exonja megtartott volt, deletio nem igazolódott. (Dr. Karcagi V.)

Laboratóriumi Dg.: A vizelet fumársav szintje fokozott, esetünkben 59 mmol/mol kreatinin. Vizelet tejsav 63, 2-oxoglutársav 26, glutársav 9 mmol/mol kreatinin, valamennyi normális tartományú. Serum CK 104 U/l.

Saját eset: Vizelet *organikus sav analysis* vezetett pontos diagnózishoz, a *Fumarsav fokozott* volt. 59 mmol/mol. creat. Fenotipikusan a beteg macrocephal volt, elődomborodó homlokkal, glutaracikuria gyamúja merült fel.

A koponya MR tágult kamrarendszert mutatott, agyi atrophia jeleként.

Az EEG hypsarrythmiát jelzett. (J.Dr. Kóbor Adj.) Neurológiai statusában jobboldali reflexek késtek, Hoffmann-Trömner reflex pozitív volt, Babinski negatív.

Izombiopszia morfológiai vizsgálata infantilis típusú izomrostokat mutatott, mitochondrialis myopathia, carnitin hiány és lipid myopathia kizárható volt. (H97009922 Ksz: 97/07/08 I. Bódi MD)

Molekuláris genetikai analysis: Werdnig Hoffmann kór-ra negatív. SMA gén 7-es 8-as exomális deletioja, valamint a Rett Syndroma MECP 2 analyse mutatiót nem mutatott. (W. Karcagi)

Th: Biocarn syrup, Convulex, B1-, B6 vitamin, Nootropil, Coenzyme Q10, dichloroacetate laktacidosis miatt tab. B15 APS, GmbH Stamborg.

Glutáraciduria

Enzymdefektus: glutársav-CoA dehydrogenáz aktivitás csökkenése.

Klinikai tünetek: hányás, ketosis, dystonia, dyskinesis, heveny infekciók.

Dg.: sav-bázis kontroll (Astrup), májfunkciók: nekrotikus enzim-aktivitások fokozódása, hyperammoniaemia

Diéta: Duocal, Energivit, lizinpótlás, Ca, carnitin, B1, B6 vitamin, gyomorszonda vagy PEG-en (Percutan endoscopos gastrostomia) át való táplálás.

3-methyl crotonyl-glycinuria

Humán 3-methyl crotonyl CoA carboxylase defektus (MCC)

MCC1 defektus

Malonyl-CoA-decarboxylase defektus

Génlokusz: 16q24 (OMIM# 248360), MCCA 3q25-q27, MCCB 5q12 – q13.1

Öröklődés: a biotin rezisztens 3MCC hiány autosomalis recesszív

A leucin katabolizmus zavara, a leggyakoribb organikus aciduria

Újszülöttkori szűrés MS/MS

Génstruktúra az MCCA és MCCB gének klónozása megtörtént, biotin tartalmú alpha- és a kisebb beta alegységek klónozása is, azaz a strukturális gén organizációjának tisztázása.

(Baumgartner és mtsai. 2001 J. Clin. Invest 107. 495-504)

Az előbbi szerzők 14 MCC defektusos egyént vizsgáltak két alcsoportban, CG1 és 2, MCCB és MCCA mutációkat detektáltak. Az MCCA mutánsok közül 5 és az MCCB mutáns allélok közül 9 formát mutattak ki, missense mutációt eredményezve, az enzim funkcióvesztésével.

MS/MS újszülöttkori szűréssel váratlanul jelentős számú organikus aciduria fedhető fel, beleértve az MCC hiányt. *(Levi HL 1998.)*

Humán és egér MCCA és B lókuszokat klónozták

Az MCCA és B missense mutációja: aMCCA D532H. Az 1594. kodonban guanin-cytozin csere történik a 13-as exonban az utolsó bázispáron, amely eredményezi a D502H missense mutációt.

MCCB I437V mutáció: az 1309 kodonban adenin és guanin csere történt a 14-es exonban, amely az izoleucin valinnal való pótlását eredményezte.

A mutáció aktiválta a splice donort, az új kötődési hely miatt deletálódott a 14-es 64 utolsó bázispárja az érett transcriptumból.

Esetismertetés: (P. R.) négy hónapos korban bágyadság, aluszékonyság, táplálási nehézség miatt felvételre került gyermek esetét szeretnénk ismertetni, akinél néhány hetes progresszió után gépi lélegeztetést kellett kezdeni. Közben a betegség aetiológiája miatt igen kiterjedt (serum, liquor, vizelet vizsgálatok, aminosav analysis, Mass tandem spectrometria, izombiopsia, képalkotó eljárások – UH, rtg, CT, MR) vizsgálatokat végeztünk, amelyek végül igazolták veleszületett, ritka anyagcsere-betegségét: *3-methyl-crotonyl-glycinuriáját*. A diétával, biotin pótlással, tüneti kezeléssel, és természetesen a nővérek és a szülő gondos ápolásával 23 hónapon keresztül, lélegeztetve ápoltuk klinikán Intenzív Osztályán. Bemutatását ritka, de részletes kivizsgálással igazolható anyagcsere-betegsége, valamint néhány, ápolásával kapcsolatban felmerülő etikai kérdés (tartós gépi lélegeztetés) miatt tartottuk érdemesnek.

S. E. (1985. 04. 15.)

Perinatalis adatok: Az anya első zavartalan terhességéből született 3100 g-mal. Motoros és mentális fejlődése 3,5 éves koráig szabályos volt.

Anamnesis, klinikum: Kisded korában gyakran elesett, egyensúlyzavar, ataxia, torti collis jelentett problémát.

Családi anamnesis: Az anya egyik bátyja PKU-s, korán diagnosztizált, diétáztatott, kitűnő mentális statusú.

Az EEG normális elektromos aktivitást mutatott.

A koponya CT enyhe pathológiai leletként enyhén kiszélesedett 4. kamrát igazolt (1989-ben). *Neurológiai status:* törzsataxia és rotatorikus nystagmus fejlődött ki, beszéde skandálóvá vált.

A megismételt CT később cerebelláris atrophíát igazolt.

Myelographia negatív volt, *liquorlelete* normális, eltekintve az enyhén fokozott IgG-től (8,53 mg/nap) beleértve az intrathekális IgG szintézist.

Az EMG enyhe deceleratiót bizonyított a n. peroneuson.

Laboratóriumi leletei közül az enyhe pyruvát-emelkedés említendő.

Mentális fejlődése még intakt volt. 4 éves korától görcsök jelentkeztek, az arc hirtelen kipirult, furcsa nyelőmozgásokat végzett, kézrángások kíséretében.

EEG-n bo. temporalis spike focust mutattak ki.

A vizelet aminosavakra, organikus savakra, glucosaminoglucanokra = GAG negatív volt. Éhezés ill. proteindús diéta, valamint. zsírok acidosis nem provokáltak.

1990. februárjában a jobb fülére megsüketült, míg bo. enyhébb volt a nagyothallás. Járási zavara gyorsan súlyosbodott, ataxia és generalizált hypotonia. 1991-re kétoldali teljes süketésg alakult ki. A *megismételt CT* extrém fokú tágult cerebelláris liquorutakat és kisagysorvadást mutatott. A lumbálpunctiós liquorlelet nem volt pathológiásnak minősíthető, bár *intrathekális IgG szintézis és oligoklonális gammopathia* igazolódott.

1991. júniusában az *ideg és izombiopsiás lelet* normális volt.

Th.: Egyedi vagy kombinált antiepileptikus kezeléssel nem lehetett görcsmentes állapotba hozni. Emiatt gyakran szorult kórházi kezelésre. A progresszív tünetek mögött neurometabóliás kórképet sokáig nem lehetett bizonyítani, lipoic acid és L-carnitin pótlásban részesült, feltételezett mitochondrialis vagy egyéb nem bizonyított enzimdefektus gyanújával.

10 éves korában veszítette el járóképességét.

S. A. (1988. 03. 11.)

Perinat. amnesise: negatív.

2001. nyarán hosszan tartó hurutos megbetegedés után derült ki enyhe hallásvesztése, MR-rel nem találtak pathológiás kórfolyamatot. Bár a cerebellum a szokottnál kisebb méretű volt.

A BERA vizsgálat nem jelzett retrocochlearis laesiot.

2002. januárjában a BERA már mko. retrocochlearis pályakárosodást mutatott.

2002. februárjában a liquorban intrathekális IgG szintézis igazolódott. A neurológiai kivizsgálás nem tisztázta a pathológiás leépülés jeleit, kivéve a bilaterális szenzorineurális hypakusist.

Az EEG vizsg. szabályos alpha típust mutatott pathológiás jelek nélkül. A fiatal hölgybeteg aktív sportoló. Megkísérelte hallókészülék használatát, eredménytelenül.

A tömegspektrometriás vizsgálat (MS/MS) 3-MCG-t igazolt.

Propionacidaemia

Enzimdefektus: propionyl Co-A carboxylase, mitochondrialis matrix enzimdefektus.

A fenti enzim a propionyl Co-A D methylmalonyl Co-A-vá való alakulását konvertálja.

Tünetek: életveszélyes metabolikus shubok, generalizált izomhyoptonia, később motoros fejlődés késése, extrapyramidalis laesios tünetek.

Labor dg.: hyperammoniaemia, utóbbi az organikus sav által gátolt karbamylfoszfát szintézis következménye, emelkedett propionyl carnitin.

Organikus savak közül methylcitrát mérsékelt felszaporodása. MS/MS tömegspektrometrián beszárított vérkorongból C3 acetylált származék emelkedése diagnosztikus.

Th.: L-carnitin (100 mg/kg per os) vagy metronidazol, élő donor máj-transzplantatio.

A kísérő hyperammonaemia miatt az ammóniaszintézist gátló carbamylglutamát (= Carbaglu) adása szükséges.

A zsírsavak mitochondriális-beta oxidációs defektusai

A rövidláncú zsírsavak defektusa. (SCAD)

Enzymdefektus: Rövidláncú Acyl-CoA Dehydrogenase defektus, amely a rövidláncú zsírsavak (főként C4) oxidációjának első lépését katalizálja.

Öröklődés: autoszomális recesszív.

Tünetei: változó orgános neurológiai tünetek és/vagy hypoglycaemia.

Korábban kb. 20 beteget közöltek az irodalomban, amszterdami Gyermekklinikai és Genetikai Laboratóriumból 11 SCAD beteget közöltek, ketotikus hypoglycaemiával vagy fejlődési késéssel, epilepsziával.

Biokémiai jellemzők: fokozott plazma butyryl (C4) –carnitin (C4C) szinttel és etylmalonsav (EMA) fokozott ürítéssel.

Diagnózist megerősítő vizsgálatok: enzym és DNS analízis.

Súlyos mutációk az SCAD génben, ritkák, gyakori a 625 G>A csere, amely a holland populáció 5,5%-ban található homozygota formában. Ezen génvariáns feltehetően felelős az SCAD tünetek kifejlődésért.

Anyagcsereaspektusok: a vitamin B2 = riboflavin vízoldékony vitamin, amely a napi ételmyszer fogyasztás produktuma. Két lépésben Flavin Adenin Dinucleotiddá metabolizálódik. A FAD, mint cofaktor funkciója számos zsírsavoxidációs enzym cofaktoraként szerepel, így az SCAD defektusok többnyire FAD dependensek.

SCAD defektusban ajánlott, bár hatékonyságát nem tanulmányozták.

Riboflavin dosis 10mg/kg max. 150mg/nap.11-ből 6 beteg nem volt riboflavin dependens. (B.T. van Maldegem, H.R. Waterham, M. Duran, M.A. van Werkhoven, L. Ijlst, J. Ruiters, R.J.A. Wanders and F.A. Wijburg:Dietitians' Meeting SSIEM Amsterdam, Netherlands, 2004.)

Középláncú acyl-CoA-dehydrogenase (MCAD) defectus (Middle Chain-Acyl-CoA-dehydrogenase defektus)

Az MCAD hiány a leggyakoribb zsírsav-oxidációs defektus Közép-Európában.

Gyakoriság 1:6000.

Klinikai tünetek: Reye szerű progresszív rapid metabolikus krízis, lethargiától szomnolenciáig. 8–16 óra éhezés után, operációk után, léphet fel az első tünet. A hányások gyakran normális vércukor mellett jellemzők, melyek 1–2 órán belül comához, kardiális dekompenzációhoz, görcsökhöz vezethetnek.

Manifesztáció: 4 hótól 3 évig, esetleg később gyermekkorban.

Prognosis: az első krízis fatális kimenetelű lehet az esetek kb. 25%-ban, gyakori a residuais neurológiai tünet.

Laboratóriumi diagnosis: vizelet szerves savak kimutatása C6-C10 dicarboxylsavak, suberyl glycine, acylcarnitinek felszaporodása. Plazma zsírsavak: oktanoyl-carnitin = C8

Molekuláris genetikai diagnosztika: Leggyakoribb mutáció a 329 E az MCAD génben.

Diagnosist támogató teszt phenyl-propionsav terhelés.

25 mg/kg/os dzsemmel keverve, kellemes ízű, 50–100 ml teában, nasogasztrikus tubuson adva. Utána normál étkezés adható. Vizeletgyűjtés 0–12 h-ig a terhelés alatt szervessav analysisre.

Normális eredmény a hyppursav és benzolsavak excessív ürítése.

Patológiás reakció, phenylpropionyl glycin, vizelet excretioja MCAD hiány esetén, míg a 3-hydroxy-phenylpropionsav LCHAD = long chain acyl CoA dehydrogenase defektusban.

A mitochondrialis beta-oxidatio a zsírsav anyagcsere leggyakoribb formája, a regulatórikus mechanizmusokat nyúl vesesejt kultúrában vizsgálták a proximális tubulus sejtekben, valamint a Henle-kacs felszálló szárában. A hosszúláncú zsírsavaknak kitéve az előbbi tényezéseket az MCDA mRNS szignifikánsan fokozódott, megduplázódott. Ua. Aktinomycin D eltörölte a zsírsavak ezen hatását, mint transzkripció gátló. (Ouali és mtsai. 2002)

Az MCAD transzkripcionális coaktivátor peroxysoma proliferator aktivált receptor = PPAR-gamma coaktivátor PGC1-alpha, mint átírási faktorok jellegzetesek a celluláris energia-anyagcserére. Bár a PGC1-alpha funkcionál, számos átírási faktor révén biológiai hatása még feltárássra vár. A nukleáris receptor oestrogen receptor alpha-variánsa élesztő hybridben tisztázott szerkezetű, mint PGC1-alpha kötőprotein. Utóbbi az MCAD gén szabályozásában is részt vesz, katalizálja a mitochondrialis zsírsavoxidatio kezdeti lépését.

Utóbbiban a leucin motívumban a 209-213 aminosavaknál = LEU-3, járulékos kötőhelyéhez kapcsolódik. (Huss és mtsai. 2002)

A zsírsavak oxidációs veleszületett defektusai akut életet fenyegető, de kezelhető kórképek, klinikailag súlyos hypoketotikus hypoglycaemiában manifesztálódnak elhúzódó étkezés esetén. Ezen kórképek közül az MCAD defektus a leggyakoribb. Okun és mtsai (2002) (Heidelbergi munkacsoport) kvantitatív acylcarnitin meghatározási módosított módszerrel dolgoztak ki elektropray ionizációs- tandem Mass-spectrometriával (ESI-MS/MS) humán fibroblast kultúrában palmitinsav substrát használatával.

MCAD-re a C8 és C10, valamint a C8/C2 arány bizonyult specifikus markernek MCAD hiány enyhe és klasszikus formáira fibroblast kultúrában.

A kvantitatív acylcarnitin profil beszáradt vérfoltból is meghatározható, diagnosztikus.

Lehotay és mtsai. (2004) (Canadai munkacsoport) vizsgálták az egészséges újszülöttek, vmint. az MCAD heterozygoták vér acylcarnitin szintjeit és a biokémiai pheno- és genotypus összefüggéseket MS/MS módszerrel. Az anyagcsere dekompenzáció fokozódott a diagnosztikus metabolitok emelkedett szintjével (C8 >0,3, de <1 $\mu\text{mol/l}$). C8 koncentráció újszülött vérmintában összefüggött a 985 A/G (adenin/guanin csere) MCAD genotypussal. 7140 újszülött vérmintából a legmagasabb C8 0,7 $\mu\text{mol/l}$ volt, amely a klasszikus MCAD hiány alatti érték. Ezen módszerrel a C8/C10 arány alapján nem lehet elkülöníteni az intenzív osztályos újszülöttek leleteit, az MCAD heterozygotáktól, de a ráta alacsonyabb, mint klasszikus MCAD-ben vagy az enyhe MCAD hiányban.

MCAD molekuláris genetikai diagnosztikája Korman és mtsai (jeruzsálemi munkacsoport 2004). MCAD homozygotákban írták le az intronális IVS 3 -1 G>C (guanin-citozin cserét), amely korai termináló kodonhoz vezetett (stop kodonhoz) az MCAD mRNS komplett hiányzó bekötéséhez, mely SIDS különböző phenotypikus formáihoz vezetett beleértve a csecsemőkori hirtelen halált és a tünetmentes statust. A szerzők tesztelték az SCAD gén 625-ös kodon GA szenzitív variánsait, melyek mint genetikai faktorok a környezeti faktorok mellett jelentős szerepet játszanak az MCAD hiány phenotypikus eltéréseiben.

A Sudden infant death (SIDS) genotypusok génjeiként szóba jön az interleukin 10 (IL-10) génpromoter polymorphismus és az ATA/ATA

genotypus. Ezen kívül a *serotonin transporter* gént is kapcsolatba hozzák a váratlan csecsemőhalállal. A *hőshock proteineket*, a lipolysis folyamatában szereplő barna zsírszövet polymorphismusát, továbbá a *mitochondrialis DNS-t* ill. mutációit. *Obdal és Rognum 2004.*

MCAD a középláncú (4-10 C) zsírsavak β -oxidációját katalyzálja.

Klinikai tünetek: ismeretlen eredetű hypoglycaemia, acidosis, csecsemőben és kisgyermekben étkezés után ismételt hányások, hypoglycaemia (coma), sudden infant death syndrome képében.

Géndefektus: MACD génmutációk, A985-G transitio, a glutamat pótlása lysinre a 329 positióban.

Mitochondriális import és praecursor zavar.

Gyakoriság: az MCAD-n különböző alléljai közül a G985 90%-ban fordul elő.

Diétás szempontok: normál étrend mellett szigorúan védeni kell az éhezéstől, egyéb közbejött megbetegedés esetén gyakori glycoze polimer ital fogyasztása szükséges energiaforrásként, preventív céllal. Alternatív energiaadó folyadékok ajánlottak. Módszer: *PCR, specifikus primerek, TaqI, NcoI vagy StyI restrictios endonuclease használatával (Kelly és mtsai, 1990.), és GT (guanin-thimin) repeat polymorphismus analysis* Az MCAD gén 5-intronjában putativ polymorphikus GT repeat analysis.

MCAD újszülöttkori szűrés eredményei

| | | | |
|------------------|------------|-----------------------|--------|
| Németország | 3000 minta | G985 allél-gyakoriság | 1/116. |
| Belgium | 1000 | | 1/77 |
| Lengyelország | 1000 | | 1/98 |
| Cseh Köztársaság | 1000 | | 1/240 |
| Magyarország | 1000 | | 1/168 |
| Bulgária | 1000 | | 1/91 |
| Spanyolország | 1000 | | 1/141 |
| Törökország | 1000 | | 1/216 |
| Japán | 500 | | 0? |

(*Gregersen N, Tanaka K, László A*)

A G985 allél Belgiumban a leggyakoribb, továbbá Bulgáriában és Lengyelországban is gyakori. Ritkább előfordulású Németországban.

References

Ouali F, Djouadi F, Bastin J: Effects of fatty acids on mitochondrial beta-oxidation enzyme gene expression in renal cell lines. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002. 283 (2): F328-34.

Huss JM, Iopp RP, Kelly DP: Peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1 alpha (PGC1-alpha) coactivates the cardiac-enriched nuclear receptors estrogen-related receptor-alpha and -gamma. Identification of novel leucine-rich interaction motif within PGC-1alpha. *J Biol Chem* 2002. 277 (43): 40265-74.

Okun JG, Kolker S, Schulze A, Kohlmüller D, Olgemöller K, Lindner M, Hoffmann GF, Wanders RJ, Mayatepek E: A method for quantitative acylcarnitine profiling in human skin fibroblasts using unlabelled palmitic acid: diagnosis of fatty acid oxidation disorders and differentiation between biochemical phenotypes of MCAD deficiency. *Biochim Biophys Acta* 2002. 1584 (2-3): 91-8.

Lehotay DC, LePage J, Thompson JR, Rockman-Greenberg C: Blood acylcarnitine levels in normal newborns and heterozygotes for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: a relationship between genotype and biochemical phenotype? *J Inher Metab Dis* (2004); 27 (1): 81-8.

Korman SH, Gutman A, Brooks R, Sinnathamby T, Gregersen N, Andersen BS: Homozygosity for a severe novel medium-chain acyl-CoA dehydrogenase mutation IVS3-1G> C that leads to introducing of the MCAD mRNA and is associated with phenotypic diversity ranging from sudden neonatal death to asymptomatic status. *Mol Genet Metab* 2004. 82 (2): 12-9.

Hosszúlancú zsírsavak mitochondriális beta-oxidációs defektusai. (LCHAD = long chain fatty acid oxidation defect)

A hosszúlancú zsírsavak mitochondriumba való belépése carnitinhez kötve történik, második lépés a spirál beta oxidációban történik. A kimenetel, a klinikai súlyosság a maradék enzimaktivitástól függ. Szerencsétlen módon, számos beteg szenved elhúzódó problémában.

Tünetek: A legenyhébb enzimdefektusos forma az acut hypoglycaemiás encephalopathya. *Arrythmiák* bonyolíthatják az anyagcsere dekompenzációt és hirtelen halálhoz vezethetnek.

Fontos a szénhidrátbevitel, szükség szerint orálisan, vagy intravénásan.

Cardiomyopathia gyakori már a diagnózis idején, de rendszerint megoldódik alacsony zsírdiétával és MCT készítménnyel.

Izomgyengeség is javul diétás kezelésre, de a maradandó gyengeség gyakori probléma, főként VLCAD hiányban. (Very long chain Acyl CoA dehydrogenase defectus).

Gyakorlat indukálta *rhabdomyolysis* fő probléma partialis CPT II. hiányban (carnitin phosphotransferáz defektus). Végül a legtöbb LCHAD hiány esetén fellép a *perifériás neuropathia*, és *retinopathia pigmentosa*, mely *progresszív látászavarhoz* vezet. Előfordul *multiplex Acyl CoA dehydrogenáz defektus*.

Középláncú zsírsavkészítmény (bioszorbin MCT) indokolt, a hosszúláncú zsírsavak oxidációját gátolja vagy a ketontest szintézist.

A ketontestek a szívben oxidálódnak. MCT készítmény ellenjaval MAD hiányban (Multiplex Acyl CoA dehydrogenas defektus), de hatékony a 3 hydroxy butyrate, amely megfordítja a progresszív cardiomyopathyát és a leucodystrophyat.

A *triheptanoin* segít az izomgyengeség javításában, és CMP-ben is hatékony.

Az Acetyl CoA belép a tricarboxilsav ciklusba, ahol az oxálecetsavtól gátlódhat. A *triheptanoin* propionyl-CoA-t generál, javítja a VLCAD hiányt és a progressziót. (Morris AA., Willink Biochemical Genetics Unit, Royal Manchester Children's Hospital, Manchester M27 4HA: Dietitians' meeting ssiem, Amsterdam, Netherlands, 2004.)